

Equipe Técnica

Angela Puchnick Legat

Pesquisadora da Embrapa Meio-Norte
angelapl@cpamn.embrapa.br

Jeudys Araújo de Oliveira

Analista da Embrapa Meio-Norte
jeudys@cpamn.embrapa.br

Antônio da Conceição Araújo

Assistente da Embrapa Meio-Norte
antonioaraujo@cpamn.embrapa.br

Jefferson F. A. Legat

Pesquisador da Embrapa Meio-Norte
legat@cpamn.embrapa.br

Alitiane Moura Lemos Pereira

Pesquisadora da Embrapa Meio-Norte
alitiane@cpamn.embrapa.br

Fabiola Helena Fogaça

Pesquisadora da Embrapa Meio-Norte
fabiolafogaca@cpamn.embrapa.br

Apoio

Secretaria Especial
de Aquicultura e Pesca



Solicitação deste documento deve ser feita à:



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agropecuária do Meio-Norte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Av. Duque de Caxias, 5650, Bairro Buenos Aires
Caixa Postal 01 - 64006-220 - Teresina, PI
Fone: (86) 3089-9100 Fax: (86) 3089-9130
www.cпамn.embrapa.br
sac@cpamn.embrapa.br

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Tiragem: 500 exemplares
Parnaíba, PI - outubro de 2008

Caracterização genética e melhoramento de ostras nativas do gênero *Crassostrea* no Brasil



Meio-Norte

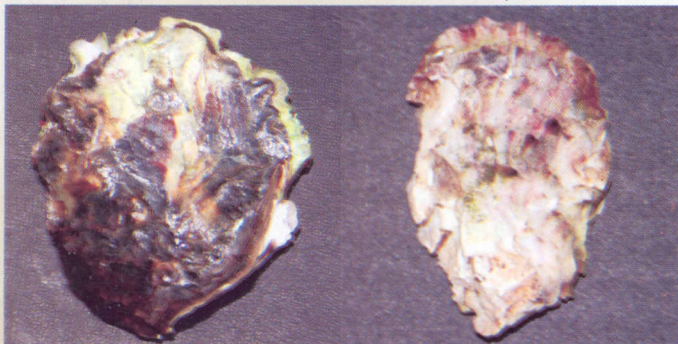
Ostras Nativas

A ostreicultura é uma alternativa sustentável e economicamente viável para a geração de alimento, emprego e renda para as comunidades litorâneas. No Brasil, a produção de ostras cultivadas ocorre principalmente na Região Sul, onde as águas mais frias são propícias para a criação da espécie *Cassostrea gigas*, proveniente do Oceano Pacífico.

Nas regiões Norte e Nordeste, as condições ambientais são favoráveis ao cultivo de ostras nativas do ecossistema de manguezal (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea brasiliana*). Nas regiões Sul e Sudeste, essas espécies também são cultivadas, embora em menor proporção que *C. Gigas*.

C. brasiliana

C. rhizophorae



Espécies de ostras nativas do ecossistema de manguezal.

Fotos: Arquivo do Núcleo de Aqüicultura e Pesca da Embrapa Meio-Norte.

Um dos fatores limitantes para a consolidação do cultivo de ostras nativas no Brasil é a necessidade de diferenciar essas espécies. As ostras *C. rhizophorae* e *C. brasiliana* possuem características morfológicas semelhantes, taxas de crescimento distintas e diferenças ecológicas e fisiológicas não tão bem estabelecidas.

O uso de técnicas moleculares para a caracterização de espécies é uma ferramenta confiável e eficaz. Entre as aplicações, podem-se citar: 1) resolução de problemas taxonômicos de espécies cultivadas que são de difícil separação (como é o caso das ostras *Crassostrea*); 2) monitoramento dos níveis de variabilidade genética das populações cultivadas ao longo das gerações; 3) identificação de ovos, larvas e matrizes de reprodutores, de forma a minimizar a mistura de estoques para o melhoramento genético e aumentar os ganhos de produção.

Caracterização genética

O projeto “Caracterização genética e melhoramento de ostras nativas do gênero *Cassostrea*” (MCT/FINEP/SEAP-PR) vem sendo conduzido para resolver problemas operacionais e otimizar a produção de ostras ao longo do litoral brasileiro. O projeto é executado através de uma Rede Nacional de Pesquisa em Ostras, coordenado pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e conta com a participação das seguintes instituições de norte a sul do Brasil: Universidade Federal do Pará (UFPA), Embrapa Meio-Norte, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Pesca de São Paulo, Universidade Federal do Paraná e Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI / Centro de Desenvolvimento em Aqüicultura e Pesca CEDAP). A primeira etapa do projeto tem como objetivo caracterizar geneticamente as espécies *C. rhizophorae* e *C. Brasiliana*.

Coleta e preparação das amostras

Amostras de indivíduos adultos são coletadas nos ambientes naturais com diferentes gradientes de salinidade e substratos, seguindo o protocolo do Laboratório de Maricultura Sustentável da Universidade Federal Rural de Pernambuco. As variáveis consideradas para a escolha dos indivíduos a serem coletados são: substrato de fixação (ostras fixadas em raízes de mangue, em rochas ou em fundo de lama ou lodo); maré (ostras que habitem a zona de variação de maré e aquelas que ficam constantemente submersas); faixa de comprimento (indivíduos de diferentes comprimentos) e salinidade (áreas com diferentes gradientes de salinidade).

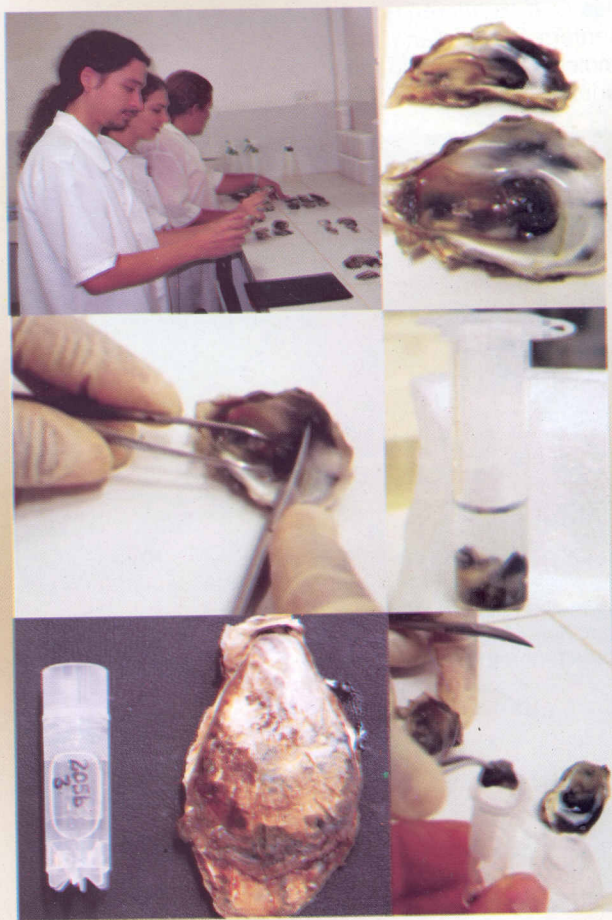


Ecossistema de manguezal. Foto: Arquivo do Núcleo de Aqüicultura e Pesca da Embrapa Meio-Norte.

As coletas são realizadas sem danificar os indivíduos e em mais de um ponto numa mesma região, de forma que duas amostras nunca estejam num mesmo substrato comum, por exemplo, numa mesma raiz ou pedra. Após a coleta do animal, registra-se a origem quanto às características do local de coleta e quanto às coordenadas geográficas através de um GPS.

A preparação das amostras dá-se em laboratório onde as conchas são lavadas, enumeradas internamente com lápis, fotografadas individualmente e enviadas para a análise morfológica, no Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (SC).

Amostras de músculo adutor são retiradas, acondicionadas em tubos contendo etanol absoluto e enviadas para a análise genética, no Laboratório de Biotecnologia Aquática da Embrapa Meio-Norte (PI).



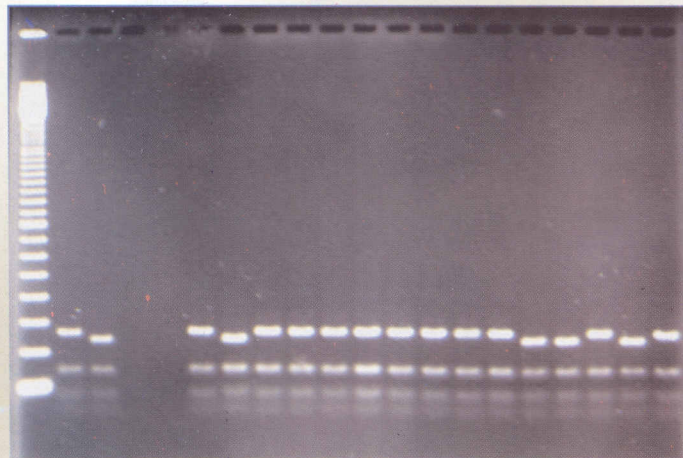
Processo laboratorial da primeira etapa do projeto. Fotos: Arquivo do Núcleo de Aquicultura e Pesca da Embrapa Meio-Norte.

Diferenciação genética das espécies

A caracterização genética das ostras é realizada por meio da análise de fragmentos do DNA mitocondrial, que são amplificados por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e digeridos com a enzima de restrição Hae III, resultando em marcadores moleculares de Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos de Restrição (RFLP).

Com o uso da técnica PCR-RFLP, é possível visualizar as diferenças entre as espécies de ostras, por meio de padrões diferenciados de bandas em um gel de agarose, fotografados sob luz ultra-violeta.

A foto abaixo mostra um gel de agarose contendo os marcadores RFLP que distinguem as ostras *C. rhizophorae* e *C. brasiliana* presentes no litoral brasileiro. As colunas 2, 6, 8 a 15, 18 e 20 representam o padrão de bandas que identifica *C. rhizophorae* e as colunas 3, 7, 16, 17 e 19 representam *C. brasiliana*. A coluna 1 é um marcador de peso molecular conhecido usado para estimar os tamanhos dos padrões de bandas RFLP.



Gel de agarose com os marcadores RFLP do DNA mitocondrial das ostras. Foto: Arquivo do Laboratório de Biotecnologia Aquática da Embrapa Meio-Norte.